Биологическая продуктивность дубового шелкопряда (Antheraea pernyi G.-M.) при различных способах воздействия агониста экдистероидов R-211

С.М. Седловская

Учреждение образования «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»

Помимо общих токсических эффектов экдистероиды и их аналоги активны так же, как селективные ингибиторы развития полового аппарата насекомых. Ряд авторов [1-3] указывают на овоцидную и ларвицидную активность агонистов экдистероидов из ряда диацилгидразинов. Они сильно снижают половую активность и плодовитость чешуекрылых и вызывают накопление вителлогенина в гемолимфе. Так, например, самцы Argyrotaenia velutinana и Choristoneura rosaceana после пребывания на поверхности, обработанной метоксифенозидом, не проявляли призывного поведения в присутствии самок [4], производные андростана, прегнана и холестана в больших дозах ингибировали созревание яичников и откладку яиц у самок комнатной мухи Musca domestica. Агонист экдизона галофенозид действует на прилежащие тела и физиологию размножения термита Coptotermes formosanus. Топическое нанесение 5мкг нестероидного агониста галофенозида на самок и самцов приводило к значительному снижению отложенных яиц [5]. При исследовании влияния метоксифенозида на Pieris brassicae установлено, что в полевых условиях инсектицид оказывает отрицательное действие на откладку яиц бабочкой и вызывает 100%-ную гибель гусениц 3-го возраста [6]. По данным Ю.Д. Холодовой [7], экдистерон в концентрации 0,002-0,02 и 0,07-0,1% (объем 10 мкл) при локальном нанесении на среднегрудь имаго свекловичного долгоносика вызывал торможение яйцекладки и снижение численности потомства до 21-24,5 и 63,6-74,9% соответственно. На метаморфоз лугового мотылька экдистерон в концентрации 0,02% не влиял, тем не менее, отродившиеся бабочки не откладывали яиц. Гормоноподобные таким образом, представляют собой новый соединения, хемостерилянтов насекомых [8].

Адрес для корреспонденции: г. Витебск, ул. Медицинская, д. 6, корп. 1, кв. 22, e-mail: sedlovskaya@gmail.com – Седловская С.М.

Несмотря на интенсивные работы по выяснению теоретических и практических вопросов применения биологически активных соединений в практике защиты растений от насекомых-вредителей, многие вопросы остаются неясными, так как наблюдается многообразие ответных реакций насекомых на воздействие биологически активных веществ и изменчивость чувствительности насекомых к ним на разных стадиях развития. Поэтому накопление фактических данных о воздействии гормоноподобных соединений на развитие насекомых с полным превращением на примере китайского дубового шелкопряда, гусеницы которого являются типичными вредителями, представляет научный и практический интерес. В связи с вышеизложенным целью наших исследований явилась оценка степени влияния агониста экдистероидов

R-211 на показатели биологической продуктивности китайского дубового шелкопряда для подтверждения гипотезы о данных соединениях как о хемостериллянтах.

Материал и методы. Исследования проводились на базе биологического стационара «Щитовка» и в лабораториях биологического факультета УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова» в 2009 г. Материалом для работы служили все фазы онтогенеза китайского дубового шелкопряда. Кормовым растением служила береза бородавчатая (Betula pendula Roth.). Все эксперименты проводились в трехкратной повторности.

Для оценки влияния биологически активных веществ, поступающих в организм насекомого, на разные стадии онтогенеза китайского дубового шелкопряда (далее дубовый шелкопряд), развитие и физиологические параметры мы использовали следующие тесты:

- 1) метод скармливания: корм одинаковой массы для гусениц обрабатывали водными растворами R-211 0,1 и 1% концентраций объемом 2 мл из расчета на 20 г кормового растения. Гусеницы в опытах питались обработанным кормом в течение трех суток. Через трое суток в опытах и в контроле обработанные листья березы регулярно, 1 раз в сутки, на протяжении всего периода развития заменяли на свежие необработанные. Наблюдали за гусеницами в течение всего периода их развития. Обработку корма проводили методом опрыскивания листьев ручным пульверизатором. Контроль обработка корма дистиллированной водой;
- 2) метод погружения: окунали яйца дубового шелкопряда на 9-й день развития и гусениц в водные растворы соединения вышеуказанных концентраций объемом 10 мл на 30 сек. После обработки гусениц помещали на корм березу бородавчатую и вели наблюдение за их поведением в течение всего периода их развития. Куколок погружали в водные растворы препарата объемом 10 мл на 1 мин. Обработанных куколок помещали в емкости и наблюдали за их развитием. Контроль обработка яиц, гусениц и куколок дистиллированной водой;
- 3) метод топического нанесения: проводили нанесение водных растворов R-211 вышеуказанных концентраций объемом 10 мкл на среднегрудь самцов и самок имаго в первый день развития. Контроль обработка имаго дистиллированной водой с добавлением этанола. После распаривания бабочек самок помещали в бумажные пакеты для откладки яиц. На четвертый день после распаривания отложенные яйца счищали со стенок пакетов, дезинфицировали и подсушивали.

В процессе исследований во всех вариантах опыта массу коконов, куколок и шелковой оболочки определяли в момент впадания куколок в диапаузу, так как к этому времени масса коконов стабилизировалась [9].

Для взвешивания использовали электронные весы «Scouth Pro» 400×0,01g. Шелконосность коконов выражали отношением массы оболочки к массе сырого кокона в процентах. Фактическую плодовитость бабочек определяли путем подсчета яиц в кладках.

Результаты и их обсуждение. Полученные нами данные отражают ранее приведенные проявления физиологической агонистов экдистероидов из группы ацилгидразинов R-211 0,1% и 1% концентрации, которые заключаются в отсроченном действии биологически активных веществ данной группы на более поздних стадиях развития дубового шелкопряда после обработки, что подтверждается показателями биологической продуктивности насекомого. Из данных табл. 1 следует, что попадание в организм гусениц вместе с листом березы R-211 0,1% и 1% концентрации масса коконов снизилась на 36% и 44% по сравнению с контролем, масса шелковой оболочки – на 50% и 58%, шелконосность – на 2,19% и 2,69% соответственно.

После экзогенного воздействия агониста на яйца наблюдалось снижение массы коконов на 20% и 32%, массы шелковой оболочки – на 22% и 38%, шелконосности – на 0,38% и 0,92% соответственно по сравнению с контролем.

Экзогенное воздействие R-211 0,1% и 1% концентрации на гусениц привело к 100% их гибели.

Таким образом, ухудшение качества коконов шелкопряда (уменьшение массы коконов, шелковой оболочки, шелконосности) при различных способах воздействия агонистов экдистероидов, вероятно, можно рассматривать как реакцию организма на негативное воздействие биологически активных веществ данной группы, в результате которого белки гемолимфы шелкопряда использовались гусеницами не на формирование шелка в шелкоотделительной железе, а на усиленный энергетический обмен, направленный на детоксикацию повреждающих агентов. Наибольшая чувствительность шелкопряда к агонистам экдистероидов проявилась при экзогенном воздействии соединений на гусениц, минимальная — при экзогенном воздействии на яйца.

Таблица 1

Характеристика коконов дубового шелкопряда при различных способах воздействия агонистов экдистероидов

Вариант опыта	Концен- трация, %	Масса сырого кокона, г	Масса коконной оболочки, г	Шелконосность, %	
Контактно-кишечное воздействие на гусениц	0,1	4,24 ± 0,10 [*]	0,35 ± 0,05	8,25 ± 0,08 [*]	
	1	3,74 ± 0,19 [*]	0,29 ± 0,04 [*]	7,75 ± 0,11 [*]	
	контроль	6,70 ± 0,09	0,70 ± 0,03	10,44 ± 0,15	
Экзогенное воздействие на яйца	0,1	5,38 ± 0,18	0,53 ± 0,05	9,85 ± 0,12	
	1	4,51 ± 0,13 [*]	0,42 ± 0,04	9,31 ± 0,11	
	контроль	6,65 ± 0,05	0,68 ± 0,04	10,23 ± 0,12	
Экзогенное воздействие на гусениц	0,1	Гибель гусениц	Гибель гусениц	Гибель гусениц	
	1	тусспиц	тусспиц		
	контроль	6,58 ± 0,08	0,67 ± 0,04	10,18 ± 0,16	

Примечание: * – Р ≤ 0,05.

Согласно данным табл. 2, разные способы воздействия агониста экдистероидов R-211 на дубового шелкопряда приводят к снижению плодовитости насекомого. При контактно-кишечном воздействии R-211 0,1% и 1% на гусениц шелкопряда наблюдалось уменьшение массы куколок по сравнению с контролем на 35% и 42% соответственно. Нами было установлено, что после воздействия 1% растворов на гусениц выхода имаго не наблюдалось вследствие гибели куколок. Плодовитость бабочек и выживаемость яиц после воздействия 0,1% раствора снизилась на 63% и 75% соответственно по сравнению с контролем.

Обработка яиц R-211 0,1% и 1% концентрации привела к уменьшению массы куколок на 18% и 30% по сравнению с контролем, снижению плодовитости бабочек на 11% и 21% и жизнеспособности яиц – на 25% и 40% соответственно.

При экзогенном воздействии R-211 на куколок дубового шелкопряда препарат вызывает сильный токсический эффект. В вариантах опыта с

0,1% концентрацией агониста наблюдался выход имаго с деформированными крыльями, а при дозах 1% происходило ненормальное развитие и имаго не могло выйти из кокона. Спаривания вышедших бабочек не наблюдалось, и, соответственно, кладки яиц тоже отсутствовали, что отражают данные табл. 2.

Таблица 2

Плодовитость бабочек дубового шелкопряда при различных способах воздействия агонистов экдистероидов

Вариант опыта	Концен- трация, %	Масса куколок, г	Плодовитость фактическая, шт.	Жизнеспособн ость яиц, %
Контактно-кишечное воздействие на гусениц	0,1	3,89 ± 0,13	70,35 ± 8,45°	21,62 ± 1,03
	1	3,45 ± 0,15	-	-
	контроль	6,03 ± 0,19	194,78 ± 4,63	87,64 ± 1,12
Экзогенное воздействие на яйца	0,1	4,85 ± 0,18	164,25 ± 6,32	63,28 ± 0,42
	1	4,09 ± 0,15	146,15 ± 5,26	50,24 ± 0,48
	контроль	5,97 ± 0,15	185,38 ± 4,13	86,24 ± 1,23
Экзогенное воздействие на гусениц	0,1	Гибель	Гибель гусениц	Гибель
	1	гусениц		гусениц
	контроль	5,91 ± 0,11	190,55 ± 5,14	86,81 ± 1,16
Экзогенное воздействие на куколок	0,1		-	-
	1	-	-	-
	контроль		196,83 ± 5,43	83,12 ± 1,32
Экзогенное воздействие на имаго	0,1		95,38 ± 8,35	23,45 ± 1,12
	1	-	62,74 ± 7,28°	18,72 ± 1,17
	контроль		192,54 ± 6,52	85,25 ± 1,22

Примечание: * – Р ≤ 0,05.

Исследования по изучению экзогенного воздействия агонистов экдистероидов на имаго дубового шелкопряда показали, что при топическом нанесении 0,1% и 1% растворов соединений на

среднегрудь только вышедших из коконов самцов и самок отмечалось снижение призывного поведения у самцов в присутствии самок по сравнению с контролем. Обработка самок и самцов шелкопряда растворами 1% концентрации в большей степени повлияли на половое поведение самцов, чем 0,1% растворы, о чем свидетельствует ярко выраженная пассивность имаго по отношению друг к другу. В результате воздействие R-211 0,1% и 1% концентрации привело к уменьшению плодовитости на 50% и 67% соответственно.

Суммируя полученные данные по биологической продуктивности дубового шелкопряда после контактно-кишечного воздействия на гусениц и экзогенного воздействия на яйца, гусениц, куколок и имаго агониста экдистероидов R-211, можно сказать, что растворы соединений в концентрации 0,1% и 1% оказали достаточно сильное отсроченное воздействие на дальнейшее развитие насекомого после обработки разных стадий онтогенеза, которое возрастало при увеличении концентрации препаратов с 0,1% до 1%.

Механизм действия соединений на разные стадии развития дубового шелкопряда выражается в проявлении стерилизующего эффекта, причем во всех случаях наблюдается прямая зависимость эффекта от концентрации раствора, способа воздействия и стадии развития, на которой была проведена обработка. Так, максимальный эффект агонист проявил при экзогенном воздействии на куколок и гусениц шелкопряда, о чем свидетельствует высокий процент гибели подопытных особей, что, вероятно, можно объяснить изменением активности нейроэндокринной системы функциональной избыточном поступлении в тело препарата и введением насекомого в цикл метаморфоза, к которому оно физиологически не готово. Минимальное отсроченное действие на дальнейшее развитие и насекомого поведение препарата проявилось при экзогенном воздействии R-211 на яйца, что, вероятно, можно объяснить защитными свойствами яичной скорлупы. Это подтверждается данными о биологической продуктивности шелкопряда по сравнению с другими вариантами опыта. Промежуточное положение занимают контактно-кишечное действие на гусениц, что, вероятно, объясняется способностью к детоксикации повреждающих агентов при поступлении в организм вместе с кормом, а также экзогенное воздействие на имаго. Следовательно, по чувствительности к агонисту экдистероидов R-211 0,1% и 1% концентрации стадии онтогенеза дубового шелкопряда при разных способах воздействия расположились в следующем порядке: экзогенное воздействие на куколок > экзогенное воздействие на гусениц > контактно-кишечное воздействие на гусениц > экзогенное воздействие на имаго > экзогенное воздействие на яйца.

Таким образом, с учетом полученных данных агонист экдистероидов R-211 можно отнести к классу хемостерилянтов насекомых.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что изученные растворы агониста экдистероидов R-211 в сублетальных концентрациях (0,1% и 1%) снижают биологическую продуктивность шелкопряда. Биологическая активность экдистероидов определялась стадией развития насекомого и способом воздействия. Наиболее чувствительными к воздействию соединения были гусеницы и куколки, наиболее устойчивыми – имаго и яйца. При этом степень воздействия препарата усиливалась при 10-кратном увеличении концентрации препаратов с 0,1 до 1%. Выявлено, что при воздействии R-211 на дубового шелкопряда наблюдается ухудшение качества коконов и плодовитости имаго независимо от способа воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

- Charmillot, P.J. Ovicidal and larvicidal effectiveness of several insect growth inhibitors and regulators on the codling moth Cydia pomonella L. (Lep., Tortricidae) / P.J. Charmillot [et al] // J. Appl. Entomol. – 2001. – № 3. – P. 147–153.
- 2. **Sun, X.** Effects of ecdysone agonists on the expression of EcR, USP and other specific proteins in the ovaries of the codling moth (Cydia pomonella L.) / X. Sun, Q. Song, B. Barrett // Insect Biochem. and Mol. Biol. − 2003. − Vol. 33, № 8. − P. 829−840.
- 3. **Sun, Xiaoping.** Effect of ecdysone agonists on vitellogenesis and the expression of EcR and USP in codling moth (Cydia pomonella) / Xiaoping Sun, Qisheng Song, Bruce Barrett // Arch. Insect Biochem. and Physiol. 2003. Vol. 52, № 3. P.115–129.
- 4. *Hoelscher, Jennifer A.* Effects of methoxyfenozide-treated surfaces on the attractiveness and responsiveness of adult leafrollers / Jennifer A. Hoelscher, Bruce A. Barrett // Entomol. exp. et appl. 2003. Vol. 107, № 2. P.133–140.
- Raina, A.K. Ecdysone agonist halofenozide affects corpora allata and reproductive physiology of the Formosan subterranean termite, Coptotermes formosanus / A.K. Raina, Y.I. Park, Z. Hruska // J. Insect Physiol. – 2003. – № 7. – P. 677–683.
- Wawrzyniak, M. Influence of methoxyphenozide on feeding and development of large cabbage white butterfly (Pieris brassicae L.) / M. Wawrzyniak // Pestycydy. – 2004. – № 3–4. – P. 63–68.
- 7. **Холодова, Ю.Д.** Фитоэкдизоны биологически активные полигидроксилированные стерины / Ю.Д. Холодова // Украинский биохимический журнал. 1979. Т. 51, № 5. С. 560—573.
- 8. **Ахрем, А.А.** Экдизоны стероидные гормоны насекомых / А.А. Ахрем, И.С. Левина, Ю.А. Титов. Минск: Наука и техника, 1973. 232 с.
- 9. **Михайлов, Е.Н.** Шелководство. М.: Госиздат сельскохозяйственной литературы, 1950. 495 с.

SUMMARY

In researches were ascertained that investigated solutions of ecdysone agonists R-211 in sublethal concentranion (0,1% and 1%) reduce biological productivity indexes of Antheraea pernyi independently of influenced way. Biological activity of preparation defined of insect developing stage and way of

influence. Caterpillars and chrysalises were the most sensitive for compound influence, and imago and eggs were the most stable.

Поступила в редакцию 21.04.2010